



Sveriges lantbruksuniversitet
Fakulteten för Veterinärmedicin och husdjursvetenskap
Institutionen för kliniska vetenskaper

Utsöndring av FCoV från kliniskt friska hankatter

Linda Wiberg



Uppsala

2010

Examensarbete inom veterinärprogrammet

*ISSN 1652-8697
Examensarbete 2010:80*

Utsöndring av FCoV från kliniskt friska hankatter

Linda Wiberg

*Handledare: Bodil Ström Holst, Institutionen för kliniska vetenskaper
Biträdande handledare: Eva Axné, Institutionen för kliniska vetenskaper
Examinator: Bernt Jones, Institutionen för kliniska vetenskaper*

*Examensarbete inom veterinärprogrammet, Uppsala 2010
Fakulteten för Veterinärmedicin och husdjursvetenskap
Institutionen för kliniska vetenskaper
Kurskod: EX0239, Nivå AXX, 30hp*

Nyckelord: Felint coronavirus, FCoV, Feline infektiös peritonit, FIP, utsöndring

*Online publication of this work: <http://epsilon.slu.se>
ISSN 1652-8697
Examensarbete 2010:80*

INNEHÅLLSFÖRTECKNING

SAMMANFATTNING	2
SUMMARY	2
INLEDNING.....	3
LITTERATURÖVERSIKT	4
Etiologi	4
Epidemiologi.....	4
Patogenes	6
Symtom vid FIP	7
Diagnostik	7
Hematologi.....	7
Serologi	8
Reverse Transcriptase Polymerasechain Reaction (RT-PCR)	8
Immunocytologi	8
METOD OCH MATERIAL	9
RESULTAT	9
DISKUSSION.....	11
TACK	13
LITTERATURFÖRTECKNING	14
BILAGOR.....	16
Bilaga 1	16

SAMMANFATTNING

Felint coronavirus (FCoV) är vanligt förekommande hos våra katter. Viruset i sig orsakar för det mesta inga symtom alls eller en mild enterit, men hos vissa individer muterar viruset och orsakar den dödliga sjukdomen Feline infektiös peritonit (FIP). De flesta katter som smittas av FCoV bär på viruset i veckor till månader för att sedan göra sig av med det. Vissa katter blir persistenta bärare och smittspridare. Eftersom viruset är så spritt i vår kattpopulation är det svårt att sanera en besättning från FCoV. Därför är många uppfödare oroliga över att få in viruset i sin besättning, vilket kan leda till att de undviker parning med katter från besättningar som inte är fria från viruset. FCoV är även vanligt hos stora kattdjur, vilket leder till problem i våra försök att bevara de utrotningshotade arterna. Smittspridningen är huvudsakligen fekal-oral och många studier har undersökt utsöndringen av viruset i avföringen men få studier har gjorts på utsöndring via andra kroppsvätskor.

I denna studie har 50 friska hankatter provtagits för antikroppar mot FCoV. Av dessa var 18 katter seropositiva och från dessa analyserades svabbprover från svalg, ögonslemhinna och ändtarm med RT-PCR i ett försök att påvisa utsöndring av FCoV. Förutom detta togs spermaprov och blodprov för RT-PCR analys. Ingen av katterna utsöndrade virus i svalg, ögonslemhinna eller sperma och det gick inte att påvisa virus i blodet. Virus utsöndrades i avföringen hos 10 av katterna och ingen av katterna med en antikropptiter lägre än 1:160 utsöndrade virus i avföringen. Att katterna inte utsöndrar virus i sperma betyder att man skulle kunna använda sig av artificiell insemination för att hindra smittspridning mellan besättningar.

SUMMARY

Feline coronavirus (FCoV) occurs commonly in cats. The virus causes most of the time no symptoms at all or mild enteritis. In some individuals, the virus mutates and causes the fatal disease Feline infectious peritonitis (FIP). Most cats infected with FCoV carry the virus for weeks to months and then eliminate it. Some cats become persistent carriers and shedders. Since the virus is so widespread in the cat population, it is difficult to eliminate a multi-cat household from FCoV. Therefore, many breeders are worried about getting the virus in their breeding cattery and this can lead to that they avoid mating with cats from catteries which are not free from the virus. FCoV is also common in exotic feline species, which is a problem in our attempts to preserve endangered species. Spread of infection is predominantly fecal-oral, and many studies have examined the fecal shedding of virus. Few studies have been undertaken on the excretion via other body fluids.

In this study, 50 healthy male cats were sampled for analysis of antibodies to FCoV. Of these, 18 cats had antibodies, and from these cats, swabs were taken from the pharynx, conjunctiva and rectum and analyzed by RT-PCR to investigate the secretion of FCoV via these routes. Besides this, both semen and blood samples were taken for RT-PCR analysis. None of the cats were shedding virus in the pharynx, conjunctiva or semen and it was not possible to detect virus in the blood. Virus was excreted in the feces of 10 of the cats and none of the cats with antibody titers lower than 1:160 were shedding virus in feces. The cats did not excrete virus in semen and this means that artificial insemination could be useful in preventing the spread of infection between catteries.

INLEDNING

Felint coronavirus (FCoV) är ett virus som är mycket vanligt bland våra katter. I Sverige så har 65 % av våra raskatter och 17 % av våra huskatter antikroppar mot FCoV (Ström Holst et al 2006). Liknade siffror ses även hos tamkatter i andra delar av världen (Gunn-Moore D et al 2001). FCoV förekommer även hos vilda kattdjur runt om i världen och detta orsakar framför allt problem hos utrotningshotade arter. Geparden är ett av de kattdjur som har visat sig vara extra känsligt för viruset och det finns beskrivet utbrott av Felin infektiös peritonit (FIP) hos geparder i fångenskap (Heeney et al 1990). Vid en provtagning av geparder i djurparker i USA visade det sig att nära en tredjedel utsöndrade virus i avföringen (Kennedy et al 2001).

Normalt ger FCoV endast lindriga symtom som en övergående enterit, men i vissa fall muterar viruset och orsakar sjukdomen FIP. Det finns idag ingen behandling som botar katterna från denna sjukdom (Addie et al 2009). Att eliminera FCoV från en kattbesättning är det enda sättet att undvika risken att besättningen drabbas av FIP. Detta är svårt då det oftast är kliniskt friska smittbärande katter som sprider viruset i en kattgrupp och FCoV finns endemiskt i många kattbesättningar. Det gör att risken för återinfektion är stor (Ström Holst et al 2005a).

Vi vet idag att FCoV utsöndras och sprids via avföringen (Addie et al 2009) och det är framförallt denna utsöndringsväg som är studerad. Viruset har även hittats i saliv från smittade katter men utsöndras inte lika frekvent där som i avföringen (Addie & Jarret 2001). Huruvida viruset utsöndras och sprids via andra smittvägar som t. ex. ögonsekret eller sperma är inte undersökt.

Även om en kattbesättning är konstaterat fri från FCoV finns det alltid en risk att få in smittan igen via inköp av nya katter eller vid parningar. Detta kan man tänka sig leder till att vissa kattuppfödare väljer att inte para sina katter med andra uppfödarens katter om de inte är konstaterat smittfria. Antalet möjliga partners minskar då, vilket blir ett problem då många kattraser redan har få individer och liten genetisk variation. Ett sätt att vidmakthålla ett gott smittskydd med bibehållen genetisk variation är att använda sig av artificiell insemination (AI). Då skulle smitta från hona till hane, och även från hane till hona kunna undvikas. Men för att inte sprida smitta från hane till hona krävs det att FCoV inte sprids via sperma, vilket vi idag inte har kunskap om. Om FCoV inte sprids via sperma kan AI bli ett bra verktyg för att undvika att få in smittan i en fri besättning. Denna kunskap skulle även vara till hjälp vid en naturlig parning för att minska risken för smittspridning. Vet man att sperman inte sprider virus kan det vara en fördel att inte låta honan och hanen dela kattlåda vid parningstillfället. Det skulle även kunna vara aktuellt att bada individerna innan de sätts ihop för att undvika viruspartiklar från lådan i päls och tassar.

Kunskapen om virusutsöndring via sperma skulle även kunna användas när det kommer till att bevara våra utrotningshotade stora kattdjur. Djurparker skulle kunna använda sig av AI och på så sätt undvika att katterna smittas av FCoV.

Syftet med denna studie var att undersöka utsöndringen av FCoV hos kliniskt friska hankatter. Prover togs från svalg, konjunktiva, rektum och sperma för att se

om viruset finns och utsöndras från dessa lokalisationer. Dessutom undersökte vi om viruset kunde påvisas i plasma hos de seropositiva katterna och om virusutsöndring kan korreleras till kattens antikroppshalt mot FCoV. Med dessa resultat hoppas vi få mer kunskap om hur FCoV smittar mellan katter och på så sätt lära oss hur vi ska göra för att undvika att få in FCoV i en besättning och även hur vi utrotar viruset i en kattgrupp.

LITTERATURÖVERSIKT

Etiologi

Felint coronavirus (FCoV) är ett stort, höljeförsett, enkelsträngat RNA- virus som tillhör familjen *Coronaviridae*, ordning Nidovirales (Addie et al 2009). Som det ser ut idag har coronavirus det största RNA genomet. Detta gör att det ofta sker fel vid replikationen vilket kan vara en orsak till att viruset kan mutera (Horzinek & Lutz 2001). FCoV kan delas in i två serotyper (typ I och II) där typ I är den vanligaste världen över men mer forskning har gjorts på typ II då den är lättare att odla i cellkultur. Typ II är en rekombination av hundens coronavirus och kattens typ I virus (Addie et al 2009). FCoV har delats in i två biotyper: Felint enteriskt coronavirus (FECV) och Felint infektiöst peritonitvirus (FIP). Dessa två går inte att skilja åt vare sig serologiskt eller genetiskt, utan är två varianter av samma virus (Herrewegh et al 1995) och begreppen ska därför användas med försiktighet. I torr miljö kan FCoV överleva i upp till 7 veckor men inaktiveras av de flesta desinfektionsmedel (Addie et al 2009).

Epidemiologi

FCoV är allmänt spritt hos våra tamkatter men förekommer även hos vilda kattdjur. Viruset sprids framförallt via avföringen vilket gör att innekatter i flerkattshushåll som delar kattlåda har högre prevalens (Addie et al 2009). Smittan sker per os och initialt replikerar sig viruset i svalg, gastrointestinalt epitel eller respiratoriskt epitel. Oftast är infektionen asymtomatisk eller så får katterna en mild enterit (Gunn-Moore & Addie 2001). Katter som infekteras av FCoV börjar utsöndra virus i avföringen inom en vecka (Pedersen et al 2008). Hur länge de är infekterade och utsöndrar virus är olika. De flesta katter utsöndrar virus i veckor till månader för att sedan helt göra sig av med viruset. Studier har även visat på katter som utsöndrar viruset intermittent. Oftast är detta katter som har eliminerat viruset men sedan blivit återinfekterade, men det kan även vara persistent infekterade katter (Addie & Jarret 2001, Foley et al 1997a, Herrewegh et al 1997, Pedersen et al 2008). Katterna kan återinfekteras av antingen en ny virusstam eller av samma virusstam (Addie et al 2003). Risken att en katt återinfekteras är stor eftersom FCoV är så spritt i vår kattpopulation (Ström Holst et al 2005a).

En mindre del av katterna blir persistenta bärare av viruset och kan utsöndra virus resten av livet utan att själva ha några symtom (Addie & Jarret 2001, Foley et al 1997a, Herrewegh et al 1997, Pedersen et al 2008). Att en smitta kvarstår i en population beror oftast på att det finns persistent infekterade djur (Horzinek & Lutz 2001). I en studie var det drygt tio procent av de infekterade katterna som blev persistenta bärare. (Addie & Jarret 2001). Om en katt blir övergående eller persistent infekterad avgörs huvudsakligen av kattens svar på infektionen. Även virusstammen skulle kunna ha betydelse, då det i en studie var en specifik

virusstam som orsakade en hög andel persistent infekterade katter (Addie et al 2003).

I en studie verkade ungefär 3 % av katterna vara resistent mot FCoV, då katterna hade utsatts för smitta men aldrig börjat utsöndra virus. Dessa katter fick antingen låga antikroppstitrar eller serokonverterade aldrig (Addie & Jarret 2001).

Studier har visat att viruset utsöndras i saliv hos smittade katter men inte så frekvent. Av 60 katter som utsöndrade FCoV i avföringen var endast 6 st positiva för FCoV i svalget medan av 84 katter som hade negativa avföringsprov var 4 st positiva i svabbprover från svalget. Utsöndringen via saliv verkar framförallt ske i början av infektionen och till och med innan virus kan detekteras i avföringen (Addie & Jarret 2001). Ström Holst et al 2005b visade att katter diagnostiserade med FIP utsöndrar virus i svalget i samma utsträckning som i avföringen. Detta skiljer dessa katter från katter som är infekterade med FCoV men inte har utvecklat FIP.

Det finns beskrivet kattungar som blivit smittade via placentan då modern blivit smittad under dräktigheten, men detta anses var mycket ovanligt (Addie et al 2009). Huruvida FCoV sprids via sperma är idag okänt då det endast har gjorts en mindre studie på fyra katter tidigare. De fyra katterna utsöndrade inte virus i sperman (Nyström 2006).

I flerkattshushåll där FCoV finns endemiskt är det vanligt att kattungar smittas före 12 veckors ålder (Harpold et al 1999). Detta sker oftast vid 5-6 veckors ålder då de maternella antikropparna har sjunkit, men det har visat sig att även 2 veckor gamla kattungar kan vara infekterade (Addie et al 2009). Utsöndringen av FCoV i avföring har visats vara högre hos kattungar än hos vuxna katter (Foley et al 1997a, Pedersen et al 2008). Det har inte setts något samband mellan kattens kön och utsöndring av FCoV (Foley et al 1997a). En hög korrelation har visat sig mellan mängden FCoV som utsöndras i avföringen och frekvensen (Horzinek & Lutz 2001).

Då utsöndringen av virus i avföringen kan vara intermittent har det studerats om stress kan påverka och öka utsöndringen av virus. Dräktighet, förlossning och laktation är en typ av stress som har studerats och visat sig inte ha någon påverkan på utsöndringen (Foley et al 1997a, Pedersen et al 2008). Pedersen et al 2008 provade även att ge metylprednisolonacetat som en artificiell stress. Detta hade heller ingen påverkan på utsöndringen av FCoV.

En katt som smittas av FCoV serokonverterar och bildar antikroppar mot viruset inom 2 till 10 veckor (Horzinek & Lutz 2001). Studier har visat att katter med höga antikroppstitrar utsöndrar virus via avföringen i större utsträckning än katter med låga antikroppstitrar (Addie & Jarret 2001, Pedersen et al 2008, Ström Holst et al 2005). Det finns även studier som inte visar någon korrelation mellan antikroppstitrar och virusutsöndring (Foley et al 1997a, Harpold et al 1999). I vissa fall har man hittat seronegativa katter som utsöndrar virus i avföringen. Detta tror man kan bero på att katterna lever i endemiska hushåll och att proverna har tagits innan de hunnit serokonvertera (Addie & Jarret 2001, Harpold et al 1999). Katter som är persistenta utsöndrare av viruset har höga antikroppstitrar

hela tiden. Hos de katter som eliminerar viruset så sjunker antikroppshalterna till en låg eller omätbar nivå (Addie et al 2004). Vissa individer kan vara seropositiva i upp till två år efter att de har slutat utsöndra virus i avföringen (Addie & Jarret 2001).

Patogenes

FCoV har en affinitet för enterocyter i tarmen där viruset replikerar och i allvarliga fall orsakar villusatrofi. Vuxna katter visar ofta inga symtom eller en mild övergående enterit. Hos kattungar kan symtomen bli allvarligare. Som nämnts tidigare kan de drabbade katterna sen göra sig av med viruset eller bli asymtomatiska persistenta smittbärare (Pedersen et al 1981). FCoV har visat sig infektera hela tarmen (Kipar et al 2010, Meli et al 2004) men har påvisats i högre koncentration i colon. Därför tror man att det är i colon viruset kvarstår hos persistenta bärare (Herrewegh et al 1997, Kipar et al 2010). Förutom att tarmen blir infekterad får katten initialt en monocytassocierad viremi (Gunn-Moore et al 1998, Kipar et al 2010, Meli et al 2004) som leder till att viruset sprids till andra organ som t.ex. mesenteriska lymfknutor, mjälte, lever, njurar, hjärna och benmärg (Kipar et al 2010, Meli et al 2004). Det går att påvisa FCoV i blodet med hjälp av RT-PCR hos katter infekterade med FCoV men trots att dessa katter är viremiska är de inte predisponerade för FIP (Gunn-Moore et al 1998).

Den fullständiga patogenesen för FIP är idag okänd (Kipar et al 2010). Det vi vet är att hos vissa individer muterar FCoV och replikerar och ansamlas i monocyter och makrofager (Addie et al 2009). Monocyterna aktiveras tillsammans med endotelceller och orsakar en vaskulit (Kipar et al 2005). Även immunkomplex och aktivering av komplement tros bidra till symtomen (Gunn-Moore et al 2001). En studie visar att av katter som är seropositiva för FCoV utvecklar ungefär 5-12 % FIP (Addie & Jarret 1992). Anledningen till att vissa katter utvecklar FIP och andra inte beror på mängden muterat virus och även kattens immunförsvar (Addie et al 2009). Det verkar som att katter med ett starkt cellmedierat immunförsvar klarar sig bättre än de katter med starkt antikroppsmedierat immunförsvar (de Groot-Mijnes et al 2005, Pedersen NC 1987). Katter som utvecklar FIP har även en ökad förbrukning av T-celler (de Groot-Mijnes et al 2005, Haagmans et al 1996).

Det är vanligare att katter under 2 år drabbas av FIP än äldre katter (Foley et al 1997b). Detta kan bero på att om kattungar infekteras innan deras immunförsvar är helt utvecklat kan viruset replikera i större utsträckning vilket predisponerar för mutation (Pedersen et al 2008). Stress som t. ex. operation, flytt eller samtidig infektion med FeLV är en predisponerande faktor till att katter som bär på FCoV utvecklar FIP (Addie et al 2009).

Att ha många katter som utsöndrar FCoV vid ett tillfälle har setts öka incidensen för FIP i en besättning. Andelen högfrekventa utsöndrare anses vara en stor riskfaktor (Foley et al 1997b).

En annan faktor som skulle kunna påverka huruvida FIP utvecklas eller inte är kattens genetiska sammansättning. I en studie var arvbarheten för utveckling av FIP runt 50 procent. Detta leder till att en katt med känslighet för FIP löper dubbelt så stor risk att drabbas som andra katter (Foley & Pedersen 1996).

FIP delas in i två klasser: en våt och en torr form. Den våta formen karakteriseras av polyserosit och vaskulit medan den torra formen karakteriseras av granulom i olika organ (Addie et al 2009). Vilken form som utvecklas beror troligen på kattens immunförsvar. Katter med svagt cellmedierat immunförsvar verkar utveckla den våta formen (Pedersen NC 1987).

Symtom vid FIP

Symtomen vid FIP varierar beroende på vilken form katten lider av och dessutom så överlappar dessa två former varandra. Ospecifika symtom som anorexi, feber som inte svarar på antibiotika, slöhet och viktnedgång är vanliga, speciellt i början av sjukdomen.

Klassiska symtom vid våt FIP är ascites med ökat bukomfång som följd. Katterna kan även få pleurit med vätskeutträde i thorax och även i perikardiet. Pleuriten leder till dyspné. Även serosit i tunica vaginalis med förstorad skrotum har setts (Addie et al 2009). Orsaken till vätskeutträdet är en immunmedierad vaskulit. Viruset binder till antikroppar och bildar immunkomplex som fäster till väggen i små blodkärl. Detta i sin tur aktiverar koagulationskaskaden och komplement vilket leder till ökad kärlpermeabilitet och läckage av proteinrikt exsudat (Gunn-Moore D et al 2001).

Torr FIP har ett mer kroniskt förlopp där pyogranulom bildas i olika delar av kroppen. Symtomen är ofta mer diffusa än vid våt FIP och varierar beroende på vilka organ som drabbas. Granulom kan ses i olika inre organ och vävnader t. ex. njurar, lever, tarmar, lymfknotor och ögon. Förstorade lymfknotor i mesenteriet kan ibland palperas. Om tarmarna drabbas kan det leda till kräkning och diarré. Uveiter är vanliga vilket leder till nedsatt syn, förändring i irisfärg och olika stora pupiller. Även keratitiska precipitat kan ses. Hos 10 % av katterna involveras meninger och ryggmärg vilket leder till neurologiska symtom som ataxi, nystagmus och beteendeförändringar. Även multipla nodulära lesioner i huden har setts. Oavsett vilken form och vilka symtom katten får så slutar det med avlivning eller död (Addie et al 2009).

Diagnostik

Att ställa diagnosen FIP på en levande individ är svårt. På katter som inte har ascites eller hydrothorax finns det idag inga konfirmerande icke-invasiva tester att göra, men finns det fri vätska i buk- eller brösthåla ska vätskan provtas. Vätskan från en katt med FIP har oftast ett halmgult utseende med klibbig konsistens och innehåller höga halter protein men har ett lågt antal celler. Görs cytologi på exsudatet ses oftast övervägande neutrofiler och makrofager. Denna är den typiska bilden men ibland kan vätskan se helt annorlunda ut. Finns det ingen fri vätska i buk- eller brösthåla får anamnes och kliniska symtom läggas ihop med hematologi och serologi i ett försök att ställa diagnos (Addie et al 2009).

Hematologi

Både lymfopeni och neutrofili är vanligt hos katter med FIP. Denna kombination är dock känd som ett stressleukogram vilket ofta ses vid flertalet olika sjukdomar hos katt. Katterna kan även få en mild till måttlig icke-regenerativ anemi, men

detta är också vanligt hos katter sjuka av andra orsaker. Koncentrationen globuliner ökar vilket leder till ökad halt totalprotein (Addie et al 2009, Sharif et al 2010). Beroende på vilka organ som påverkas kan leverenzymmer, urea och kreatinin bli förhöjda (Addie et al 2009).

Serologi

Antikroppar mot FCoV kan mätas i serum. Den vanligaste metoden som används är indirekt immunofluorescens (Pedersen 1976). Som sagt tidigare är många av våra katter idag seropositiva mot FCoV vilket gör att resultatet ska tolkas med försiktighet. Katter som lider av FIP kan ha låga antikroppstitrar eller t.o.m. vara negativa. Detta beror på att det finns mycket virus som binder till antikropparna och gör dem otillgängliga. Serologi kan framförallt vara till hjälp vid sanering av en kattpopulation från FCoV (Addie et al 2009, Sharif et al 2010). Antikroppstitrarna varierar mellan laboratorier. På SVA ligger värdena mellan 1:10 och 1:≥1280. Katter med lägre titer än 1:10 anses vara negativa (Addie & Jarret 2001).

Reverse Transcriptase Polymerasechain Reaction (RT-PCR)

RT-PCR kan användas för att påvisa FCoV i avföring, blod och olika typer av vävnader och sekret hos infekterade katter. Att påvisa FCoV i avföring är användbart för att påvisa asymtomatiska smittbärare i en kattpopulation. Detta är användbart vid sanering av en grupp katter. Det går att påvisa FCoV i blod och studier har visat att plasma är mer sensitivt än serum (Gunn-Moore et al 1998, Herrewegh et al 1995), men alla infekterade katter blir inte positiva för FCoV i blod. I en studie av sju asymtomatiska katter som var seropositiva för FCoV påvisades FCoV RNA i plasma hos två katter. Samma författare gjorde en större studie där FCoV RNA kunde påvisas i plasma hos 37% av de seropositiva asymtomatiska katterna (Herrewegh et al 1995). Gunn-Moore et al (1998) visade att hos ungefär 80 % av seropositiva katter oavsett hälsostatus gick det att påvisa FCoV i blodet. Att påvisa FCoV RNA i blod kan vara till hjälp vid detektion av asymtomatiska smittbärare men ger inte en definitiv diagnos av FIP (Gunn-Moore et al 1998, Herrewegh et al 1995). Virus kan påvisas med RT-PCR i t. ex. bukvätska, dock ska detta tolkas med försiktighet då denna metod är mycket känslig och detekterar även små mängder virus, och även andra inflammatoriska tillstånd kan göra att virus diffunderar från blodbanan till vätskan (Addie et al 2004).

Immunocytologi

Hos katter med FIP sprids viruset i makrofager och kan påvisas i vävnader och bukvätska. För att påvisa FCoV i makrofager används immunofluorescens och immunohistokemi. Med immunofluorescens kan FCoV i makrofager påvisas i t. ex. bukvätska. Denna metod har fördelen att ett bukpunktat är relativt lätt att ta. Med immunohistokemi påvisas FCoV i vävnadsbiopsier som oftast måste tas genom laparoskopi eller laparotomi. Är någon av dessa metoder positiva anses det vara diagnostiskt för FIP, men ett negativt svar betyder inte att FIP kan uteslutas (Addie et al 2009) .

METOD OCH MATERIAL

Katterna som inkluderades i studien var friska okastrerade hankatter som skulle sederas eller sövas av en annan anledning än att de skulle delta i studien. Sammanlagt provtogs 50 katter. Alla katter som provtogs hade lämnats in för kastration och provtagningen utfördes på tre olika kliniker. Djurägarna blev tillfrågade om de ville delta i studien på telefon när de bokade tiden eller när de lämnade in katten. De fick även fylla i ett frågeformulär och skriva på ett djurägarmedgivande.

Från början var det tänkt att endast raskatter skulle provtas då de i större utsträckning är infekterade med FCoV. Men det visade sig vara svårt att få in tillräckligt med katter så då inkluderades även huskatter i studien.

Katterna sövdes med medetomidin och ketamin. Då de skulle kastreras fick de även NSAID och en opioid. Blodprover togs i vena cephalica i serum- och EDTA-rör. Proverna skickades omedelbart till SVA, Avdelningen för virologi där indirekt immunofluorescens för antikroppar mot FCoV analyserades på serumet. Antikroppstitrar < 1:10 ansågs vara negativa. Var katten seropositiv utfördes även RT-PCR på buffy coaten från EDTAblod för att påvisa nukleinsyra från Coronavirus typ 1.

Svabbprover togs med sterila tops från konjunktiva, svalg och rektum. Handskbyte mellan provtagningarna utfördes för att undvika kontamination mellan de olika proverna. Svabbproverna lades sedan i separata uppmärkta mjölkror och förvarades i frys i -20°C fram till analys.

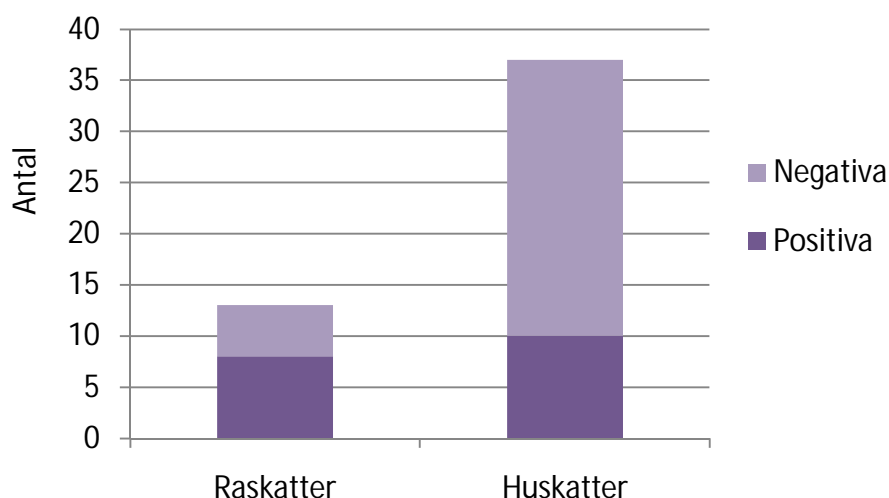
Sperma samlades med en metod beskriven av Zambelli et al, 2008. De har visats att när en hankatt sederas med en alfa-2-receptoragonist så ansamlas sperma i urinröret. Denna sperma kan samlas upp genom att en urinkateter med öppning i toppen förs in ca 9 cm i urinröret. Kapillärkraften gör att sperman i urinröret dras in i katetern. I studien användes en Mila EZ-GO urinkateter 3,5 Fr som smörjdes med Xylocaingel 2% och fördes sedan sterilt in 9 cm i urinröret. Urinkatetern togs ut och sperman fördes över i ett Eppendorff-rör som fylldes med 0,1 ml steril NaCl. Proverna förvarades i frys -20°C i avvaktan på analys.

När 18 seropositiva katter hade provtagits utfördes RT-PCR enligt Gut et al 1999 på svabbprover och sperma från dessa katter på Avdelningen för virologi, SVA. Vid provtagningen av sperma från katt C och katt K (tabell 1, 2) kom det urin i katetern och det var därför inte säkert om provet innehöll sperma eller inte. Efter att proverna hade analyserats undersöktes dessa två prov i mikroskop för att se att de innehöll spermier. Båda proverna innehöll spermier och fick därför inkluderas i studien.

RESULTAT

Sammanlagt analyserades 50 stycken katter för antikroppar mot FCoV. Av dessa var 18 st katter seropositiva vilket ger en prevalens på ungefär 38 %. Av katterna som provtogs var 37 st huskatter om katten som var en blandning mellan Ragdoll och Birma inkluderas. Av dessa var 10 st seropositiva vilket betyder att

prevalensen för FCoV hos huskatterna var 27 %. Antalet raskatter var 13 st och 8 st var seropositiva vilket ger en prevalens hos raskatterna på 62 %. (figur 1)



Figur 1: Fördelningen mellan seropositiva och seronegativa katter för FCoV av totalt 50 provtagna kliniskt friska hankatter.

Hur fördelningen mellan antikropptitrarna såg ut visas i tabell 1. Där kan även katternas ras och ålder ses. Åldern på katterna varierade från 6 månader till 4 år. En katt visste djurägarna inte åldern på. Det frågeformulär som djurägarna fick fylla i (se bilaga 1) visade att 15 st av de 18 seropositiva katterna var innekatter och resten var både ute och inne. Av innekatterna var 2 st ensamkatter medan de övriga kom från hushåll med fler än en katt. Dessa resultat visas även i tabell 1. 5 st av katterna hade pågående eller hade haft problem med diarré under en längre period av sitt liv. Ingen av djurägarna hade haft en katt med FIP.

Tabell 1: Katternas antikroppstiter, ras, ålder och boendeförhållanden.

Katt	Titer	Ras	Ålder	Innekatt	Antal katter i hushållet
A	1:10	Main Coon	4 år	X	4
B	1:10	Sibirisk Katt	3 år	-	1
C	1:20	Main Coon	11 mån	X	2
D	1:40	Huskatt	6 mån	X	3
E	1:160	Huskatt	6 mån	X	3
F	1:160	Huskatt	?	X	4
G	1:320	Main Coon	9 mån	X	1
H	1:320	Ragdoll	~ 6 mån?	X	2
I	1:320	Perser	9 mån	X	2
J	1:640	Huskatt	3 år	-	2
K	1:640	Huskatt	10 mån	-	1
L	≥1:1280	Norsk skogkatt	1 år	X	2
M	≥1:1280	Huskatt	1 år	X	1
N	≥1:1280	Huskatt	1 år	X	2

O	≥1:1280	Siames	8 mån	X	2
P	≥1:1280	Huskatt	7 mån	X	3
Q	≥1:1280	Huskatt	8 mån	X	4
R	≥1:1280	Ragdoll/Birma	9 mån	X	2

Resultaten från RT-PCR på svabbproverna och buffy coaten visas i tabell 2. Vid analys av buffy coaten från EDTAblodet så kunde ingen virusnukleinsyra påvisas hos någon av de seropositiva katterna. Inte heller kunde virus påvisas i svalget, ögonen eller sperman hos någon av katterna. Utsöndring i avföringen kunde påvisas hos 10 av katterna. Ingen av dessa katter hade en antikroppstiter lägre än 1:160. Av katterna med högre antikroppstiter än 1:160 var det 3 katter som inte utsöndrade virus i avföringen.

Tabell 2: Katternas antikroppstitrar och RT-PCR resultat.

Katt	Titer	Provtagningsställe				
		Öga	Svalg	Ändtarm	Sperma	Buffy coat
A	1:10	-	-	-	-	-
B	1:10	-	-	-	-	-
C	1:20	-	-	-	-	-
D	1:40	-	-	-	-	-
E	1:160	-	-	-	-	-
F	1:160	-	-	+	-	-
G	1:320	-	-	+	-	-
H	1:320	-	-	+	-	-
I	1:320	-	-	-	-	-
J	1:640	-	-	+	-	-
K	1:640	-	-	+	-	-
L	≥1:1280	-	-	-	-	-
M	≥1:1280	-	-	-	-	-
N	≥1:1280	-	-	+	-	-
O	≥1:1280	-	-	+	-	-
P	≥1:1280	-	-	+	-	-
Q	≥1:1280	-	-	+	-	-
R	≥1:1280	-	-	+	-	-

DISKUSSION

Huvudsyftet med studien var att undersöka var FCoV utsöndras hos katter som har antikroppar mot FCoV. Studien gav även en möjlighet att undersöka prevalensen av viruset hos våra katter i Sverige. Resultaten blev 27 % hos våra

huskatter och 62 % hos våra raskatter. Dessa siffror liknar de siffror som har visats tidigare (Ström Holst et al 2006) förutom att prevalensen hos huskatterna är lite högre. Detta beror förmodligen inte på prevalensen har ökat utan man får ta i beaktande hur urvalet av katter gjordes i denna studie. Det gjordes inget slumpvist urval utan katterna är alla hankatter och eftersom de lämnades in för kastrering är katterna mellan 6 månader och 4 år gamla. Som sagt tidigare så smittas oftast katterna i ung ålder (Addie et al 2009) och de flesta bär på viruset en period för att sedan göra sig av med det (Addie & Jarret 2001, Foley et al 1997a, Herrewegh et al 1997, Pedersen et al 2008) vilket leder till att prevalensen borde bli högre hos unga katter. Detta resultat är alltså inte representativt för hela kattpopulationen.

Av de katter som var antikroppspositiva var övervägande andelen innekatter och hushållet innehöll oftast fler än en katt. Detta stämmer överens med tidigare konstateranden om att innekatter från flerkattshushåll har ett högre smittryck än ensamma katter och utekatter (Addie et al 2009).

Tio av de 18 katterna utsöndrade virus i avföringen vilket styrker den redan välkända teorin om att avföringen är den huvudsakliga smittvägen för FCoV (Addie et al 2009). Ingen katt med antikroppstiter lägre än 1:160 utsöndrade virus vilket gör att risken att en katt med låg antikroppstiter utsöndrar virus är liten. Detta stämmer överens med några tidigare studier som visat ett samband mellan antikroppstitrar och virusutsöndring (Addie & Jarret 2001, Pedersen et al 2008, Ström Holst et al 2005). Av de katter med antikroppstiter högre än 1:160 så var det tre som inte utsöndrade virus i avföringen.

Det gick inte att påvisa utsöndring av FCoV i svalget eller i ögonslemhinnan hos någon av katterna i studien. Dessa resultat styrker tidigare studier som gjorts på seropositiva katter där virus i saliv endast kunde påvisas hos ett fåtal katter och ofta i början av infektionen (Addie & Jarret 2001). Detta visar även ytterligare på skillnaden mellan katter infekterade med FCoV och katter med FIP som har visat sig utsöndra virus i saliv i samma utsträckning som i avföringen (Ström Holst et al 2005b). Vad jag har hittat så finns inga tidigare studier där ögonsekret från katter har undersökts för FCoV. Dessa resultat pekar åt att katter som bär på FCoV inte utsöndrar det via ögonslemhinnan eller så utsöndras viruset i samma utsträckning som i saliven.

Ingen av katterna utsöndrade virus i sperma vilket var samma resultat som sågs hos de fyra katterna som ingick i Nyströms studie 2006. Detta betyder att man skulle kunna använda sig av AI för att undvika att få in FCoV i en population, vilket även skulle kunna vara till stor hjälp när det kommer till bevarandet av våra utrotningshotade stora kattdjur. AI skulle även gynna användningen av flera olika partner inom raskattaveln då kattuppfödare inte behöver vara oroliga över att få in viruset i sin besättning via sperman. Detta är framför allt viktigt inom de kattraser som redan har en liten genetisk variation och är få i antal. Att virus inte sprids via sperman gör att man bör kunna använda sig av andra åtgärder för att minska smittspridning vid naturlig parning. Till exempel att honan och hanen inte bör använda samma kattlåda och att man eventuellt skulle kunna bada dem innan de sätts ihop för att få bort viruspartiklar i päls och tassar. Sen bör tiden katterna är tillsammans vara så kort som möjlig.

Det gick inte att påvisa FCoV i buffy coaten från någon av katterna. Detta var lite förvånande då andra studier har kunnat påvisa virus i plasma (Gunn-Moore et al 1998, Herrewegh et al 1995). Men i dessa studier har man inte använt sig av just buffy coaten, så de olika teknikerna är en möjlig förklaring. Anledningen till att vi valde att analysera buffy coat är att katter som infekteras av FCoV får en monocytassocierad viremi och därför borde det gå att påvisa virus i buffy coaten, och även i högre koncentration än om man analyserar plasma.

TACK

Ett stort och varmt tack till...

...alla katter och djurägare som deltagit i studien

...Bodil för all hjälp, engagemang och otroligt snabba svar på mina mail och frågor dygnet runt

...Tina Mannerfelt och personal på Djurdoktorn i Västerås för all provtagning av katter. Utan er skulle jag inte ha lyckats få ihop så många som jag fick

...Kristina Viktorsson och Uppsala Veterinärmottagning för jagandet av katter och bidrag med material, tid och utrymme

...personal på Universitetsdjursjukhuset för tålamod vid mina provtagningar

...Karin Ullman och Anna Lindhe för snabba analyser och bra rådgivning

...Eva Axné för bra kommentarer och snabba svar

...Peter och lilla Stina för att ni livat upp min tillvaro när jag varit trött

LITTERATURFÖRTECKNING

- Addie D, Belák S, Boucraut-Baralon C, Egberink H, Frymus T, Gruffydd-Jones T, Hartmann K, Hosie MJ, Lloret A, Lutz H, Marsilio F, Grazia Pennisi M, Radford AD, Thiry E, Truyen U, Horzinek MC. 2009. Feline infectious peritonitis. ABCD guidelines on prevention and management. *J Feline Med Surg* 11, 594-604
- Addie DD, Jarrett O. 2001. Use of a reverse-transcriptase polymerase chain reaction for monitoring the shedding of feline coronavirus by healthy cats. *Vet Rec* 148, 649-653
- Addie DD, Jarret O. 1992. A study of naturally occurring feline coronavirus infections in kittens. *Vet Rec* 130, 133-137
- Addie DD, Paltrinieri S, Pedersen NC. 2004. Recommendations from workshops of the second international feline coronavirus/feline infectious peritonitis symposium. *J Feline Med Surg* 6, 125-130
- Addie DD, Schaap AT, Nicolson L, Jarret O. 2003. Persistence and transmission of natural type I feline coronavirus infection. *Journal of General Virology* 83, 2735-2744
- De Groot-Mijnes JD, van Dun JM, van der Most RG, de Groot RJ. 2005. Natural history of a recurrent feline coronavirus infection and the role of cellular immunity in survival and disease. *J Virol* 79, 1036-1044
- Foley JE, Pedersen NC. 1996. The inheritance of susceptibility to feline infectious peritonitis in purebred catteries. *Feline Pract* 24, 1, 14-22
- Foley JE, Poland A, Carlson J, Pedersen NC. 1997a. Patterns of feline coronavirus infection and fecal shedding from cats in multiple-cat environments. *J Am Vet Med Assoc* 210, 1307-1312
- Foley JE, Poland A, Carlson J, Pedersen NC. 1997b. Risk factors for feline infectious peritonitis among cats in multiple-cat environments with endemic feline enteric coronavirus. *J Am Vet Med Assoc* 210, 1313-1318
- Gunn-Moore D, Addie D. 2001. The Peritoneal Cavity. I: Ramsey IK, Tennant BJ. *BSAVA Manual of canine and feline infectious diseases*. 151-166. Gloucester
- Gunn-Moore DA, Gruffydd-Jones TJ, Harbour DA. 1998. Detection of feline coronaviruses by culture and reverse transcriptase-polymerase chain reaction of blood samples from healthy cats and cats with clinical feline infectious peritonitis. *Vet Microbiol* 62, 193-205
- Gut M, Leutenegger CM, Huder JB, Pedersen NC, Lutz H. 1999. One-tube fluorogenic reverse transcription-polymerase chain reaction for the quantitation of feline coronaviruses. *J Virol Methods* 77, 37-46
- Haagmans BL, Egberink HF, Horzinek MC. 1996. Apoptosis and t-cell depletion during feline infectious peritonitis. *J Virol* 70(12), 8977-8983
- Harpold LM, Legendre AM, Kennedy MA, Plummer PJ, Millsaps K, Rohrbach B. 1999. Fecal shedding of feline coronavirus in adult cats and kittens in an Abyssinian cattery. *J Am Vet Medical Assoc* 215, 948-951
- Heeney JL, Evermann JF, McKeirnan AJ, Marker-Kraus L, Roelke ME, Bush M, Wildt DE, Meltzer DG, Colly L, Lukas J. 1990. Prevalence and implications of feline coronavirus infections of captive and free-ranging cheetahs (*Acinonyx jubatus*). *J virol* 64 (5), 1964-1972
- Herrewegh AA, de Groot RJ, Cepica A, Egberink HF, Horzinek MC, Rottier PJ. 1995. Detection of feline coronavirus RNA in feces, tissues, and body fluids of naturally infected cats by reverse transcriptase PCR. *J clin microbiol* Mar, 1, 684-689

- Herrewegh AA, Mähler M, Hedrich HJ, Haagmans BL, Egberink HF, Horzinek MC, Rottier PJ, de Groot RJ. 1997. Persistence and evolution of feline coronavirus in a closed cat-breeding colony. *Virology*, 234, 349-363
- Horzinek MC, Lutz H. 2001. An update on feline infectious peritonitis. *Veterinary Sciences Tomorrow*. Issue1, (www.vetscite.org/issue1/reviews/txt_index_0800.htm)
- Kennedy M, Citino S, Dolorico T, McNabbs AH, Moffat AS, Kania S. 2001. *Journal of zoo and wildlife medicine* 32 (1), 25-30
- Kipar A, May H, Menger S, Weber M, Leukert W, Reinacher M. 2005. Morphological features and development of granulomatous vasculitis in feline infectious peritonitis. *Vet Pathol* 42, 321-330
- Kipar A, Meli ML, Baptiste KE, Bowker LJ, Lutz H. 2010. Sites of feline coronavirus persistence in healthy cats. *J Gen Virol* 91, 1698-1707
- Meli M, Kipar A, Müller C, Jenal K, Gönczi E, Borel N, Gunn-Moore D, Chalmers S, Lin F, Reinacher M, Lutz H. 2004. High viral loads despite absence of clinical and pathological findings in cats experimentally infected with feline coronavirus (FCoV) type I and in naturally FCoV-infected cats. *J Feline Med Surg* 6, 69-81
- Nyström Åsa. 2006. Felint coronavirus och felin infektiös peritonit- En litteraturstudie samt en pilotstudie av FCoV-utsöndring hos kliniskt friska hankatter. Examensarbete 2006:25 ISSN 1652-8697. Uppsala
- Pedersen NC. 1987. Virologic and immunologic aspects of feline infectious peritonitis virus infection. *Adv Exp Med Biol*, 218, 529-550
- Pedersen NC. 1976. Serologic studies of naturally occurring feline infectious peritonitis. *Am J Vet Res* 37, 1449-1453
- Pedersen NC, Allen CE, Lyons LA. 2008. Pathogenesis of feline enteric coronavirus infection. *J Feline Med Surg* 10, 529-541
- Pedersen NC, Boyle JF, Floyd K, Fudge A, Barker J. 1981. An enteric coronavirus infection of cats and its relationship to feline infectious peritonitis. *Am J Vet Res* 42, 368-377
- Sharif S, Arshad SS, Hair-Bejo M, Omar AR, Zeenathul NA, Alazawy A. 2010. Diagnostic methods for feline coronavirus. *Vet Med Int* , 28 Juli
- Ström Holst B, Englund L, Palacios S, Renström L, Berndtsson LT. 2006. Prevalence of antibodies against feline coronavirus and *Chlamydophila felis* in Swedish cats. *J Feline Med Surg* 8, 207-211.
- Ström Holst B, Karlstam E, Treiberg Berndtsson L. 2005a. Åtgärder vid FIP-utbrott i flerkattshushåll. *SVT* 7, 19-25
- Ström Holst B, Ullman K, Karlstam E, Englund L, Thorén P, Bélak S. 2005b. Excretion of FCoV from cats diagnosed with FIP. Comparative and emerging virus infections of dogs and cats. International congress of veterinary virology June 2005 at The University of Liverpool Leahurst Wirral, UK.
- Zambelli D, Prati F, Cunto M, Iacono E, Merlo B. 2007. Quality and in vitro fertilizing ability of cryopreserved cat spermatozoa obtained by urethral catheterization after medetomidine administration. *Theriogenology* 69, 2008, 485-490

BILAGOR

Bilaga 1

Frågor

1. Står katten på några medicineringar?

JA ☐

NEJ ☐

Om ja, vilka?

2. Är katten en innekatt eller en utekatt?

3. Har katten haft problem med diarréer tidigare?

JA ☐

NEJ ☐

Om ja, hur ofta och när?

4. Hur många katter finns det i hushållet?

5. Brukar ni ha problem med diarré hos era kattungar?

JA ☐

NEJ ☐

6. Har ni haft någon katt som blivit diagnostiserad med FIP?

JA ☐

NEJ ☐

7. Önskar ni få svaret på blodprovet (halten antikroppar mot FCoV) hemskickade till er?

JA ☐

NEJ ☐

E-post (för provsvar):
